

生物学的硝化における有殻葉状仮足虫類の役割とその制御に関する研究

著者	李 先寧
号	2699
発行年	2000
URL	http://hdl.handle.net/10097/7972

氏 名	リ センネイ
授 与 学 位	李 先寧 博士（工学）
学 位 授 与 年 月 日	平成 13 年 3 月 26 日
学位授与の根拠法規	学位規則第 4 条第 1 項
研究科、専攻の名称	東北大学大学院工学研究科（博士課程）土木工学専攻
学 位 論 文 題 目	生物学的硝化における有殻葉状仮足虫類の役割と その制御に関する研究
指 導 教 官	東北大学教授 野池達也
論 文 審 査 委 員	主査 東北大学教授 野池達也 東北大学教授 大村達夫 東北大学教授 今村文彦 東北大学助教授 西村修

論 文 内 容 要 旨

1. 研究の背景および目的

排水処理技術の進歩により、人間の健康に関わる重金属などの水質汚濁はほぼ解消されたものの、湖沼や河川、海域の環境基準の達成率は依然として横ばいであり、水質汚濁の改善は進んでいない。その要因としては下水道をはじめ浄化槽、農村集落排水処理施設の整備が遅れたことがあげられる。さらに、これまでの排水処理の重点は有機物除去に置かれ、排水中に含まれている窒素やリンが閉鎖性水域に蓄積した結果、1次生産者の増大を引き起こし、富栄養化問題が深刻になっている。富栄養化の原因物質である窒素やリン対策が行われないうちに、水質汚濁の改善は図れない。しかしながら、現状では日本において下水道の場合、窒素やリンを除去している高度処理人口は全体の 7.7% にすぎず、また、現在の高度処理技術では処理水の水質として窒素 $5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、リン $0.5 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 程度が限界である。これをし尿汲み取りの時の負荷量と比較してみると、リンでは減少がみられるものの、窒素ではほとんど変わらない。すなわち、窒素に関しては生活雑排水たれ流しの状況と下水道の普及後の状況に大きな差がないことを意味する。

このような背景において窒素やリンを除去する高度処理の重要性が高まり、研究が盛んに行われてきた。窒素除去に関しては生物学的窒素除去法が物理・化学的方法に比べ、省エネルギー、省資源型であるため、処理法の主流となっている。しかし、硝化反応を行う硝化細菌は独立栄養細菌に属し、これらの細菌は従属栄養細菌に比べて増殖速度が極めて遅いため、活性汚泥や生物膜中の全菌数に占める割合が非常に低い。また、硝化細菌は流入負荷、水質および水温、pH、DO に非常に敏感であり、これらは硝化速度に直接的な影響を及ぼし、処理の安定性に欠けるという問題が生じている。高効率かつ安定な窒素除去を行うためには硝化機能の促進とりわけ硝化細菌の活性化が重要な課題となっている。

これまで硝化機能の向上に関する研究は主に硝化の物理・化学的な制御条件（流入負荷、HRT、SRT、pH など）または硝化細菌の集積法に着目して行われ、少なからず機能向上に貢献してきた。一方、実際の排水の生物処理は細菌、原生動物および微小後生動物で構成さ

れる混合培養系であり、その中の微生物間相互作用（捕食・被食、基質・溶存酸素をめぐる競合・競争）が処理機能を大きく左右する。しかし、微生物生態系とりわけ微生物間の相互作用が十分に検討されていないため、処理においてアプローチの方法が乏しく、処理効率が限界に達している。

近年、生物反応槽内における特定の微小動物の存在により細菌が活性化し、有機物の除去能が高まることが明らかになりつつある。同様な機構が硝化にも働く可能性が考えられるが、それについての研究は少なく、硝化に影響を及ぼす微小動物の特定や分離・培養および硝化細菌活性、硝化能に及ぼす影響に関する研究がなされていない。

そこで本研究では、硝化細菌の増殖や活性に関わる重要な因子として原生動物に着目し、原生動物と硝化細菌の生態学的な相互作用、ならびにそれを活用した硝化機能の高いプロセスの構築に関して検討を行った。本研究はまず既往の調査研究で硝化と密接な関係にあるのではないかとされている有殻葉状仮足虫類 *Arcella vulgaris* に着目し、*A.vulgaris* の増殖に及ぼす環境因子の影響を明らかにした。さらに硝化における *A.vulgaris* の優占化機構の解明を行った。そして *A.vulgaris* による硝化細菌の活性化効果の定量的な評価を行い、硝化活性を最大限に高めるための微生物生態系を創出する条件を検討した。さらに *A.vulgaris* を反応槽内に定着させ、個体数を制御し、その硝化細菌の活性化機能を活用した微生物生態系の構築による高効率硝化プロセスの開発に関する検討を行った。

2. 論文の構成

本論本は以下に示した通り 7 章で構成されている。

第 1 章「総論」では、本研究の背景および目的とその意義について述べた。

第 2 章「排水処理における生物学的硝化および微小動物の役割に関する既往の研究」では、まず硝化に影響を及ぼす因子と、硝化能の強化方法として提案されている技術を整理した。また、細菌とともに排水の浄化をつかさどる主要なメンバーである原生動物は、水質指標性、細菌活性化やそれに伴う処理機能の促進などに大きな役割を果たしており、硝化においても微小動物が硝化能に大きな影響を及ぼすことをまとめた。さらに硝化過程に出現する微小動物の動態を既往の研究から整理し、硝化と相関の高い微小動物の検索を行い、これらの既往の研究をふまえて本研究の課題の抽出を行った。

第 3 章「硝化過程に出現する有殻葉状仮足虫類 *Arcella vulgaris* の増殖に及ぼす環境因子の影響」では、硝化過程で出現頻度が高く、硝化と密接な関係にある原生動物の有殻葉状仮足虫類 *Arcella vulgaris* に着目し、分離・培養方法を確立したうえで、食物濃度、温度、pH、塩濃度などの環境因子が増殖に及ぼす影響について検討を行った。

第 4 章「有殻葉状仮足虫類 *A.vulgaris* の優占化機構」では、*A.vulgaris* の優占化機構および硝化指標性を検討するために、生物学的環境因子としての硝化細菌の存在が *A.vulgaris* の増殖に及ぼす影響を被食・捕食関係の観点から検討した。すなわち、他の原生動物種と比較しながら硝化細菌捕食特性を回分培養実験によって検討した。また、硝化に伴い変化する窒素の形態および濃度が *A.vulgaris* の増殖に及ぼす影響を回分実験で検討し、定量的に評価した。さらに連続混合培養実験を行い、硝化の進行に伴う微生物生態系

の変化をとらえ、*A.vulgaris*および他の原生動物の消長と硝化の関係を把握し、*A.vulgaris*の優占化機構および硝化指標性について検討を行った。

第5章「有殻葉状仮足虫類 *A.vulgaris* の硝化機能に及ぼす影響」では、硝化細菌のポピュレーションおよび活性に及ぼす原生動物の役割を解明するための基礎的研究として *A.vulgaris* に着目し、まず *A.vulgaris* の細菌嗜好性、細菌捕食速度について検討した。そして *A.vulgaris* と硝化細菌の二者半連続培養実験、および *A.vulgaris* の優占化操作を施した活性汚泥混合培養実験を用いて、硝化細菌の現存量・活性、硝化機能に及ぼす *A.vulgaris* の影響を検討した。

第6章「有殻葉状仮足虫類 *A.vulgaris* の制御による硝化機能強化」では、第5章の結果を受け、*A.vulgaris* を反応槽内に定着させ、*A.vulgaris* の現存量を適切に制御することで、硝化促進効果を最大限に発揮させることが可能であると考えられたため、水質条件を比較的容易にコントロールできる2槽曝気処理プロセスを開発し、有用原生動物 *A.vulgaris* の集積や現存量制御手法、さらに硝化能に及ぼす影響および処理特性について検討し、2槽曝気処理を用いた原生動物制御による高効率硝化プロセスの開発を試みた。

第7章「総括および結論」では、本研究で得られた知見を総括して示した上で今後の課題を述べた。

3. 本研究における主要な結果および結論

1) *A.vulgaris* を活性汚泥から分離し、適正な培養方法を確立した。*A.vulgaris* は高い有機物濃度の培地において増殖できず、汚泥細菌懸濁液および *Chlorella* 粉末懸濁液のような低有機物濃度の培地を用いることで培養が可能であり、高い有機物濃度環境は *A.vulgaris* の増殖に適していないことがわかった。

2) *A.vulgaris* の増殖に及ぼす環境因子として食物濃度、温度、塩濃度、pH について検討した。活性汚泥細菌を食物とした場合の最大比増殖速度 μ_{max} は 1.08d^{-1} 、半飽和定数 K_s は $8.1 \times 10^7 \text{cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ であった。温度については、*A.vulgaris* の増殖最適温度は 32°C であり、 $10 \sim 36^\circ\text{C}$ まで生息が可能であるが、比較的高温時での比増殖速度が高いことがわかった。塩濃度による影響については、 $1/150\text{M}$ のリン酸緩衝液塩濃度以下では増殖に対する影響がないことを明らかにした。pH の影響については、pH が 4.2 以上では増殖が認められ、6.0 から 7.0 の間では比増殖速度が最も高く、中性からやや酸性は *A.vulgaris* の増殖に適していることがわかった。

3) 硝化における *A.vulgaris* の優占化機構を水質的な因子としての窒素形態および濃度、生物学的な因子としての硝化細菌捕食特性から検討した。*A.vulgaris* は硝化細菌を捕食し、高い比増殖速度を有することから、硝化が進行し、硝化細菌が高濃度に存在する環境は *A.vulgaris* の増殖に有利であることがわかった。また、*A.vulgaris* の増殖は $\text{NH}_4\text{-N}$ により著しく阻害され、硝化が進行した環境は *A.vulgaris* の増殖に有利であることがわかった。硝化の進行に伴う硝化細菌および $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の変化は *A.vulgaris* の出現、消長を左右し、結果として *A.vulgaris* の硝化指標性を生じさせると考えられる。

4) 二者半連続培養実験において、*A.vulgaris* の存在により、*Nitrobacter winogradskyi* の

亜硝酸酸化比活性は 1.34×10^{-9} から $2.24 \times 10^{-9} \text{mg} \cdot \text{NO}_2\text{-N} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{cell}^{-1}$ と約 1.7 倍増加し、*Nitrosomonas europaea* のアンモニア酸化比活性は 5.92×10^{-11} から $7.59 \times 10^{-11} \text{mg} \cdot \text{NH}_4\text{-N} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{cell}^{-1}$ と約 1.3 倍高くなった。ATP 比活性も同様な結果を示し、硝化細菌は *A. vulgaris* の存在により活性化されることが明らかになった。さらに活性汚泥を用いた回分混合培養系においても *A. vulgaris* を大量に添加した系では捕食により硝化細菌数は減少するが、硝化細菌 1 個あたりの硝化活性は 3 倍向上し、全体の硝化能としても向上する結果が得られた。

5) 2 槽式曝気反応槽を開発し、2 槽目に流入する水質をコントロールすることにより *A. vulgaris* の増殖に適した低有機物、低 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の環境を形成し、*A. vulgaris* を集積することができた。*A. vulgaris* 濃度と硝化速度の間にはシグモイド型の関係が見られ、*A. vulgaris* 濃度が高くなるにしたがい、硝化速度は高くなることがわかった。このようにして硝化速度を高めた結果、硝化率は 63% から 91% 以上になり、大幅な処理水質の向上を実現した。

本研究では微生物生態系の観点から原生動物と細菌との捕食・被食関係に着目し、原生動物の硝化に及ぼす影響およびその制御による硝化機能の向上の可能性について検討した結果、有殻葉状仮足虫類 *A. vulgaris* の存在により硝化細菌が活性化し、硝化能は向上することが明らかになった。さらに 2 槽曝気反応槽による *A. vulgaris* の制御条件を検討し、*A. vulgaris* を反応槽内に高濃度に定着させることで硝化機能を高められることが明らかになった。今後、実用化するために実装置レベルでの検討などが必要であり、また、本研究で行った水質制御以外に *A. vulgaris* を大量培養し、微生物製剤として反応槽内へ投入するなど新たな手法も考えられる。そのためには大量培養および保存技術に関する基礎研究と、合理的な制御を可能とするシミュレーションモデルの開発が研究課題である。

論文審査の結果の要旨

世界的にもますます深刻化してきた水域の富栄養化問題を解決するためには、高効率かつ安定的な窒素・リンの除去が要求されている。現在、窒素除去は生物学的方法が最も多く適用されている。しかし、硝化細菌の増殖速度が極めて遅いため、硝化効率が低く処理の安定性にかける等の問題が生じている。本論文は、硝化細菌の増殖や活性に関わる重要な因子として原生動物に着目し、原生動物の硝化に及ぼす影響を被食・捕食の観点から解明するとともに、硝化に有用な原生動物の優占化機構を明らかにし、反応槽内に適切な濃度に集積させることにより高い硝化能を発揮できる微生物生態系の構築が可能であることを示し、これらの結果を基に高効率の硝化プロセスを開発した成果を取りまとめたもので、全編7章より構成される。

第1章は総論であり、本研究の背景および目的について述べている。

第2章では、生物学硝化における問題点を整理するとともに、原生動物が排水の生物処理、とりわけ硝化に及ぼす影響に関する既往の研究を整理し、今後取り組むべき研究課題について示している。

第3章では、硝化の進行した環境に特異的に出現する有殻葉状仮足虫類 *Arcella vulgaris* に着目し、その分離・培養方法を確立し、増殖に及ぼす環境因子の影響を明らかにした。これは新たな知見である。

第4章では、*A. vulgaris* の出現に及ぼす硝化細菌濃度および硝化に伴い変化する窒素の形態および濃度の影響を検討し、*A. vulgaris* が硝化の進んだ環境に出現する機構を明らかにしている。これは重要な成果である。

第5章では、*A. vulgaris* が硝化細菌のポピュレーションおよび活性に及ぼす影響を検討し、*A. vulgaris* の捕食による硝化細菌の減少に対して、*A. vulgaris* の存在により硝化細菌が活性化し、全体として硝化能が向上することを明らかにした。これは特に重要な成果である。

第6章では、*A. vulgaris* を反応槽内に定着させ、個体濃度を制御する手法として2槽曝気処理プロセスを開発し、それにより大幅な硝化機能向上が実現できることを示している。これは有用な成果である。

第7章は結論である。

以上要する本論文は、微生物生態系の観点から原生動物の硝化に及ぼす影響を解明し、*A. vulgaris* の存在が硝化細菌を活性化させ、硝化機能を向上させることを明らかにしたうえで、その集積や制御を比較的容易にできる高い硝化能を有するプロセスを開発した成果を示したもので、環境工学の発展に寄与するところが少なくない。

よって、本論文は博士（工学）の学位論文として合格と認める。